西花蓟马 EST-SSR 信息分析、标记筛选及其与 Genomic-SSR 的多态性比较

段惠生[1,2]，张安盛[2]，赵传志[3]，于　毅[2,*]，褚　栋[1,*]
(1. 青岛农业大学农学与植物保护学院，山东青岛 266109；2. 山东省农业科学院植物保护研究所，济南 250100；
3. 山东省农业科学院高新技术研究中心，济南 250100)

摘要：西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 是一种世界性入侵昆虫，近年来传入我国并不断扩散蔓延。基于简单重复序列(simple sequence repeats, SSRs)的西花蓟马种群遗传结构研究对于揭示其传播途径等具有重要的指导价值。本研究对来源于西花蓟马的 13 839 条 EST 序列进行了 uni-EST 组装、EST-SSR 信息分析以及标记筛选，并比较了 EST-SSR 与 Genomic-SSR 在分析遗传多样性方面的差异。结果表明：在 7 707 个 singlets 中共找到 2 623 个 SSR 位点，分布于 1 930 个 uni-EST 中，平均每 2.21 kb 就出现一个 SSR 位点。重复单元中，以单碱基重复单元为主(83.00%)，其次是四碱基重复单元(11.17%)，而二、三、五和六碱基重复单元所占比例较低(分别为 1.41%，0.80%，2.02% 和 0.91%)。设计出的 22 对 EST-SSR 引物中，4 对引物能稳定扩增出清晰的目的条带；荧光标记毛细管电泳发现 3 对引物表现出多态性。西花蓟马 EST-SSR 与 Genomic-SSR 多态性分析表明，这 3 对多态性 EST-SSR 引物揭示的多态信息含量(*PIC*)为 0.48 ~0.69，比 5 对多态性 Genomic-SSR 引物揭示的 *PIC*(0.88 ~0.92)略低。本研究结果可为今后更深入开展西花蓟马的种群遗传结构分析提供帮助。

关键词：西花蓟马；分子标记；EST-SSR；Genomic-SSR；荧光标记毛细管电泳；多态性
中图分类号：Q968　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2012)06-0634-07

Characterization and molecular marker screening of EST-SSRs and their polymorphism compared with Genomic-SSRs in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae)

DUAN Hui-Sheng[1,2], ZHANG An-Sheng[2], ZHAO Chuan-Zhi[3], YU Yi[2,*], CHU Dong[1,*] (1. College of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China; 2. Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China; 3. High-Tech Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

Abstract: The western flower thrips (WFT), *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae), is an important agricultural pest worldwide. In recent years, it has spread into many provinces since its first detection in China. The research of the population genetic structure based on microsatellite marker (simple sequence repeats, SSRs) will contribute to revealing its invasion pathway. In this study, we analyzed the characteristics of SSRs from expressed sequence tags (ESTs) in *F. occidentalis*, screened PCR primers for EST-SSRs and tested the diversity of EST-SSR primers with the capillary electrophoresis. The results showed that 2 623 EST-SSRs were distributed in 1 930 uni-EST sequences, with an average of 1 SSR in every 2.21 kb of uni-EST sequence. Among mono- to hexa-nucleotide repeat types, mononucleotide repeats are the dominant type (83.00%), and tetranucleotide repeats are the second domainant type (11.17%). Furthermore, 4 of 22 pairs EST-SSR primers designed produced discernable PCR products. The capillary electrophoresis revealed that 3 of 4 pairs of EST-SSR primers are polymorphic. The average polymorphism information content (*PIC*) with the 3 polymorphic EST-SSR primers (0.48 - 0.69) is lower than that with 5 polymorphic Genomic-SSR primers (0.88 - 0.92). This study may contribute to further research on the analysis of genetic structure of *F. occidentalis* populations in future.

Key words: *Frankliniella occidentalis*; molecular marker; EST-SSR; Genomic-SSR; capillary

---

基金项目：公益性行业(农业)科研专项(200803025)；国家科技支撑计划课题(2012BAD19B06)
作者简介：段惠生，男，1986 年生，山东潍坊人，硕士研究生，研究方向为有害生物综合防治，E-mail: duanhs-810@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: robertyuyi@163.com; chinachudong@sina.com.cn
收稿日期 Received: 2012-04-06；接受日期 Accepted: 2012-05-23

electrophoresis; polymorphism

西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 是一种世界性入侵昆虫。该害虫不仅直接取食寄主植物，而且传播多种植物病毒，给花卉、农作物造成严重损失(Jones *et al.*, 2005)。西花蓟马原产于美国西部，早在20世纪40年代对美国西部的花卉产业造成巨大的危害(Bailey, 1940)。近30年来，随着国际贸易活动的日益频繁，西花蓟马迅速传播扩散。目前，西花蓟马已广泛分布于美国、荷兰、南非、澳大利亚、日本等60多个国家和地区(Kirk, 2001; Kirk and Terry, 2003)。在我国，2000年首次在云南省昆明国际花卉节参展的缅甸盆景上截获西花蓟马(蒋小龙等, 2001); 2003年在北京温室的辣椒上首次发现其危害(张友军等, 2003)，随后在云南、山东、江苏、新疆等地也发现西花蓟马的危害(徐家菊和韦丽莉等, 2005; 郑长英等, 2007; 严丹侃等, 2010; 杨华等, 2010)。

西花蓟马种群遗传结构分析对于揭示其种群基因交流、灾变遗传机制与分子进化等具有重要意义。同时，这些研究有助于揭示其传播途径、扩散规律以及制定有效的综合防治策略。简单重复序列(simple sequence repeats, SSRs)由于具有多态性高、共显性、容易检测等优点，已广泛应用于种群遗传结构等研究中(褚栋等, 2007, 2008; 刘佳妮等, 2008)。目前开发的西花蓟马SSR分子标记相对较少(Brunner and Frey, 2004)。近年来，表达序列标签(expressed sequence tags, ESTs)已成为开发SSR标记的重要资源，与其他方法相比，EST-SSR因具有易开发、低成本、近缘种间通用性好等优点，而得到了越来越多研究人员的关注(李斌等, 2004; Catherine *et al.*, 2006; Ellis and Burke, 2007; 张琳琳等, 2008; 刘玉娣和侯茂林, 2010; 米智等, 2011; 段云等, 2011; Ma *et al.*, 2011)。最近，Rotenberg 和 Whitfield(2010)构建了西花蓟马 cDNA 文库，并得到了13 839条EST序列，为开发新的分子标记提供了宝贵的资源。

本研究对上述西花蓟马EST序列进行了SSR查找、相关信息分析、SSR引物设计和多态性引物筛选，并与已开发的Genomic-SSR分子标记(Brunner and Frey, 2004)进行了多态性比较，以期为更深入开展西花蓟马的种群遗传结构等研究提供帮助。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

实验虫源为采集于中国山东青岛、威海，云南晋宁、昭通和美国加利福尼亚州的西花蓟马雌成虫，采集后存放于95%的乙醇中，-20℃保存备用。

1.2 EST-SSR 的搜索

以FASTA格式从NCBI数据库(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/index.html)中下载来自西花蓟马的13 839条EST序列(截至2010年12月)。利用软件DNAstar对西花蓟马EST序列进行预处理，去除载体序列和长度小于150 bp的序列，然后用软件Cap3(http://genome.cs.mtu.edu/cap/cap3.html)对EST中长度大于150 bp的序列按照默认的参数进行拼接。利用MISA(MicroSatallite)软件进行SSR查找，查找标准定义为：单核苷酸重复10次以上，二核苷酸重复6次以上，三核苷酸重复5次以上，四核苷酸以上的重复3次。

1.3 EST-SSR 引物设计与合成

由于contigs中为拼接后得到的序列，这些序列的扩增可能会出现扩增无效的结果，因此本文仅从singlets中进行SSR引物的筛选，利用Primer Premier 5.0(Lalitha, 2000)对含有SSR位点的EST序列进行引物设计。引物设计原则为：EST序列长度大于100 bp；SSR序列的开始和结束位置分别距5′和3′端不少于20 bp；引物长度18~22 bp；理论退火温度Tm值为40.4~65.4℃，而且上游和下游引物的Tm值相差不大于5℃；GC含量40%~60%；PCR扩增产物长度100~400 bp；同时尽量避免引物二级结构Dimer、Hairpin、False primer以及连续6个碱基配对的出现。引物由生工生物工程(上海)有限公司合成。

1.4 西花蓟马 DNA 提取、PCR 扩增和电泳检测

基因组DNA的提取方法参照De Barro和Driver(1997)的方法，略有改动。提取DNA放入4℃备用或储藏于-20℃以下。EST-SSR的PCR反应体系(10 μL)为：10×buffer(Mg^{2+} free) 1 μL，25 mmol/L Mg^{2+} 0.8 μL，dNTPs (10 mmol/L) 1 μL，上游引物(10 pmol/μL) 0.5 μL，下游引物(10 pmol/μL) 0.5 μL，ddH_2O 5.6 μL，Taq酶(5 U/μL) 0.1 μL，模板0.5 μL。PCR反应程序为：94℃预变性4 min；95℃变性30 s；48~54℃复性1 min，72℃延伸1 min；35个循环；最后72℃ 10 min终止

反应。Genomic-SSR 的 PCR 反应体系及反应程序参照 Brunner 和 Frey (2004)。

电泳检测：PCR 扩增产物用 2.0% 琼脂糖电泳进行初步检测，挑选能够稳定出现亮带的个体。对于多次稳定出现亮带的个体，在其正向引物上加注的荧光染料［由生工生物工程(上海)有限公司合成］分别为 6-羧基荧光素 (6-carboxyfluorescein, FAM)、5-六氯荧光素 (5-hexachloro-fluorescein, HEX) 与 5-羧基荧光素 (5-carboxytetramethyl-rhodamine, TAMRA)，经 PCR 扩增后送至山东省农业科学院高新技术中心测序中心，进行毛细管电泳检测。

1.5 数据统计分析

利用软件 Popgene32(version 1.31)(Yeh *et al.*, 1999)计算观测等位基因数 (*Na*)、有效等位基因数 (*Ne*)、观测杂合度(*Ho*) 和期望杂合度(*He*)；利用 *PIC*-CALC(Version 0.6)计算位点的多态信息含量 (*PIC*)。

2 结果与分析

2.1 西花蓟马 EST-SSR 的搜索

13 839 条 EST 序列进行前处理和聚类拼接后，共得到 9 829 条 uni-EST，其中 contigs 2 122 条，平均长度为 835.50 bp；singlets 7 707 条，平均长度为 522.30 bp。通过 MISA 软件查找 SSR，结果共查找到 2 623 个 SSR 位点，分布于 1 930 个 uni-EST 中，平均每 2.21 kb 就出现一个 SSR 位点。

2.2 西花蓟马 EST-SSR 的出现频率和分布特征

由表 1 可以看出，西花蓟马 EST-SSR 种类较为丰富，一至六核苷酸重复类型都能看到，但各种类型的出现频率差异较大。其中单碱基重复单元出现次数最多，共出现 2 201 次(83.91%)，其次为四碱基重复单元，共出现 293 次(11.17%)。其余二、三、五和六碱基重复单元出现较少，分别出现 37 次(1.41%)，21 次(0.80%)，53 次(2.02%)和 18 次(0.69%)。在 2 623 个 SSR 中，共有 204 种重复单元(motif)。其中，四碱基重复单元种类数量最多，共有 114 种；其次是五碱基重复单元，有 44 种。

从表 2 可以看出，在单碱基重复单元中主要以 A/T(67.7%)为主，而 C/G(16.24%)的出现频率较低；种类数的四碱基重复单元中，以 AAAT/ATTT(2.47%)出现频率最高，其次为 AAAC/GTTT (1.37%)，然后是 AAAG/CTTT (0.95%)，其他类型的出现频率均较低；双碱基重复单元中，以 AC/GT(0.68%)出现频率最高，其他类型的出现频率均较低；五碱基重复单元中，以 AAAAC/GTTTT (0.42%)，其他类型出现频率均较低。三碱基和六碱基重复单元出现的频率都较低。

表 1 西花蓟马 EST-SSR 重复单元的出现频率

Table 1 Occurrence frequency of different repeat motifs of EST-SSRs in *Frankliniella occidentalis*

重复单元类型 Repeat type	基元种数 Number of motif types	SSR 数量(个) Number of SSRs	所占比例(%) Proportion in all SSRs	出现频率(kb) Frequency
单核苷酸 Mononucleotide	4	2 201	83.91	2.63
二核苷酸 Dinucleotide	10	37	1.41	156.72
三核苷酸 Trinucleotide	17	21	0.80	276.13
四核苷酸 Tetranucleotide	114	293	11.17	19.79
五核苷酸 Petranucleotide	44	53	2.02	109.41
六核苷酸 Hexanucleotide	15	18	0.69	322.15
总计 Total	204	2 623	–	–

表 2　西花蓟马 EST-SSR 主要重复单元的出现频率

Table 2　Occurrence frequency of main repeat motifs of EST-SSRs in *Frankliniella occidentalis*

重复单元类型 Repeat type	出现次数 Number	百分数 Percentage	重复次数 Repeat number
A/T	1 775	67.67	10 – 19
G/C	426	16.24	10 – 19
AC/GT	18	0.68	6 – 8
AAAT/ATTT	65	2.47	3
AAAC/GTTT	36	1.37	3 – 4
AAAG/CTTT	25	0.95	3
AAAAC/GTTTT	11	0.42	3

2.3　西花蓟马 EST-SSR 引物的初步筛选

利用 Primer Premier 5.0 软件筛选出 22 对 EST-SSR 引物，并对这些引物进行多个个体的 PCR 扩增和琼脂糖电泳检测，仅有 4 对引物的扩增产物大小与预测的结果基本一致(表 3)，因此利用这 4 对引物进行荧光标记毛细管电泳检测多态性。荧光标记毛细管电泳检测结果(图 1)表明，4 对 EST-SSR 引物中有 3 对(WD133，WD293 和 WD492)表现出多态性，1 对引物(WD382)表现为单态性。

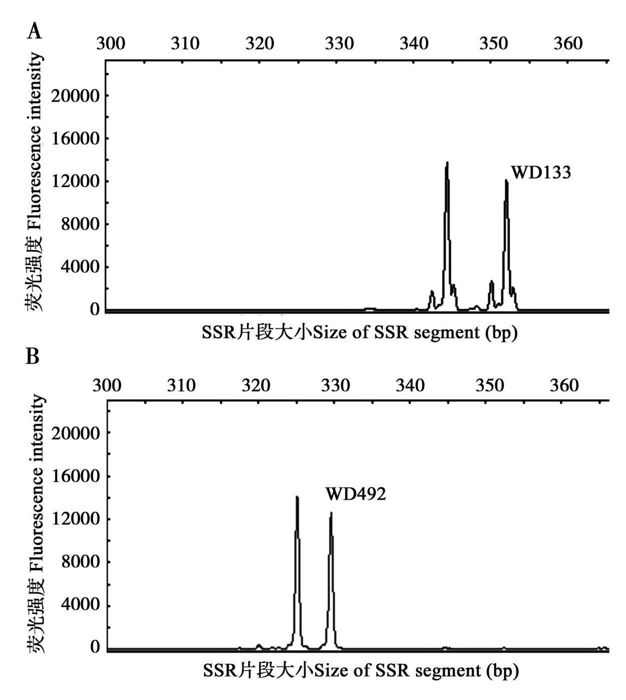


图 1　EST-SSR 引物 WD133(A)和 WD492(B)的 PCR 产物的毛细管电泳检测图谱

Fig. 1　Detection of the capillary electrophoresis of PCR product with EST-SSR primers WD133 (A) and WD492 (B)

表 3　EST-SSR 引物以及 Genomic-SSR 引物信息

Table 3　Information of EST-SSR primers and Genomic-SSR primers

引物代码 Primer code	重复序列 Repeat motif	引物序列(5′–3′) Primer sequence	退火温度(℃) Annealing temperature	GenBank 登录号 GenBank accession no.	来源 Source
WD133	$(TG)_8$	f-TTCACCCACCTCCAGTCTATT CCAGCACGGGACACAAATC	54	GT310133	本研究 This study
WD293	$(TCC)_6$	h-CCAATGCGTGTTCAGTTAGC AGACCTGATTCACCGTATGTTC	54	GT311293	
WD492	$(TTG)_5$	h-TATGTTGACTATTGCCTTGC TCTAACGGACTGAGCCCT	48	GT311492	
WD382	$(TTG)_6$	t-CAGGAACATAAGAGTTTGAGTG GTAGAAAAACAGTGTAGGCAGT	52	GT307382	
FOCC44	$(GT)_{49}$	h-TGTCACCAAGGCGGTGG CGCTGGACCTTACCGAGAGA	60	–	Brunner and Frey, 2004
FOCC56	$(GA)_{42}$	t-TCAACCCCCATCACTCTTCC CCTTGAGCTCCCCTCACCTC	60	–	
FOCC75	$(GA)_{23}$	f-GGATATTATTTTCCCGTCCCG TGGTTCTTTTGTAAAGGCAGCG	60	–	
FOCC83	$(GT)_{46}$	t-GTCTGTCACCAAGGCGGTGG CAGGTAACGCACAGTGCTGCTC	60	–	
FOCC125	$(GC)_6(GT)_{10}$	f-AACCCGCACCGTGCA AGTTGGGCTGCCCGTCC	60	–	

f: 6-羧基荧光素 FAM; h: 5-六氯荧光素 HEX; t: 5-羧基荧光素 TAMRA.

2.4 西花蓟马 EST-SSR 与 Genomic-SSR 的多态性比较

由表 4 得知，使用 3 对多态性 EST-SSR 引物，共获得 11 个等位基因，观测等位基因数(*Na*)为 4 ~5，有效等位基因数(*Ne*)为 1.26 ~2.35，期望杂合度(*He*)为 0.19 ~0.58，多态信息含量(*PIC*)为0.48 ~0.69；而 5 对 Genomic-SSR 引物均表现出较丰富的多态性，共获得 205 个等位基因，*Na* 为 11 ~17，*Ne* 为 3.75 ~5.23，*He* 为 0.76 ~0.83，*PIC* 为 0.88 ~0.92。

表 4 西花蓟马 EST-SSR 与 Genomic-SSR 位点的遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of *Frankliniella occidentalis* revealed by EST-SSRs and Genomic-SSRs

位点 Locus	片段长度 (bp) Product size	观测等位基因数 Observed number of alleles *Na*	有效等位基因数 Effective number of alleles *Ne*	观测杂合度 Observed heterozygosity *Ho*	期望杂合度 Expected heterozygosity *He*	多态信息含量 Polymorphism information content *PIC*
WD133	343 – 353	4	2.35	0.36	0.58	0.69
WD293	376 – 385	5	1.99	0.50	0.51	0.48
WD492	325 – 334	4	1.26	0.20	0.19	0.59
WD382	396	1	1	0	0	–
FOCC44	86 – 110	12	3.98	0.13	0.77	0.88
FOCC56	193 – 217	12	5.23	0.42	0.83	0.89
FOCC75	188 – 246	17	4.94	0.32	0.81	0.92
FOCC83	74 – 100	11	3.75	0.17	0.76	0.89
FOCC125	135 – 159	12	4.61	0.57	0.79	0.88

3 结论与讨论

3.1 西花蓟马 EST-SSR 的分布特点

本研究利用生物信息学方法，对来自西花蓟马的 EST-SSR 进行了信息分析。结果在 1 930 个 singlets 共找到 2 623 个 SSR 位点，平均每 2.21 kb 就出现一个 SSR 位点。重复单元中，以单碱基重复单元为主，占西花蓟马总 EST-SSR 的 83.00% 以上，其次是四碱基重复单元占总 EST-SSR 的 11.17%，而二、三、五和六碱基重复单元所占比例均较低(分别为 1.41%，0.80%，2.02% 和 0.91%)。这与蜜蜂、曼氏血吸虫 *Schistosoma mansoni*、赤拟谷盗 *Tribolium castaneum*、褐飞虱 *Nilaparvata lugens*、麦红吸浆虫 *Sitodiplosis mosellana* 以及家蚕 *Bombyx mori* 第 12 连锁群的 EST-SSRs 分布均有所不同(李斌等，2004；唐远菊等，2007；张琳琳等，2008；刘玉娣和侯茂林，2010；段云等，2011；米智等，2011)。

SSR 的类型在不同物种间出现的频率和分布特征出现大的差异，除了可能与物种自身差异有关外，还可能由于设定的查找标准不一致。对于查找的标准，由于没有统一的限定，不同的研究人员有不同的选择。Temnykh 等(2001)研究发现，重复序列长度在 12 ~20 bp 之间的 SSR 均能够应用于多态性分析，SSR 长度在 20 bp 以上时多态性表现更加丰富。本研究中依据的标准符合上述研究发现，样本的检测也证明开发的引物多态性良好。此外，不同的选择标准从一定程度上扩大了 EST-SSR 的存在范围，为开发更多的 EST-SSR 提供了理论基础。

本研究发现，在西花蓟马 EST-SSR 各种重复单元中，以富含 A(或 T)的重复单元占主导地位，如 $(A)_n$ 和 $(T)_n$ 在单碱基重复序列中占主导地位，共占重复单元的 67.00% 以上。四碱基重复序列中也以 AAAT，AAAG 和 AAAC 比例最高。由以上分析结果可以清楚地看出 EST-SSR 偏爱富含 A 或 T 的序列要明显多于富含 G 或 C 的序列，这种情况在人类基因组和植物基因组内也有发生。究其原因可能是存在于基因组中的多聚 A 发生突变，产生富含 A 的重复基元，也有可能是由于受它们自身的二级结构和 DNA 复制的影响而产生(李斌等，2004)。

3.2 EST-SSR 标记与 Genomic-SSR 标记的比较

由于 EST-SSR 引物来自高度保守的 DNA 转录区，其揭示的多态性在理论上应低于基因组 SSR 标

记。多态信息含量(*PIC*)是衡量标记多态性的重要指标：当 $PIC > 0.50$ 时，该位点为高度多态位点；$0.25 < PIC < 0.50$ 时为中度多态性位点；$PIC < 0.25$时为低度多态性位点(Botstein *et al*., 1980)。由本研究结果可见，5 个 Genomic-SSR 标记均为高度多态位点，而 EST-SSR 标记中 1 个(WD293)为中度多态性位点，2 个(WD133 和 WD492)为高度多态性位点。西花蓟马 EST-SSR 标记所揭示的多态性略低于 Genomic-SSR 标记揭示的多态性。

3.3 荧光标记毛细管电泳检测方法

与常规的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测方法相比，基于 DNA 分析仪的 SSR 荧光标记毛细管电泳检测方法，可以将结果自动记录到计算机上，然后利用相关分析软件得到 DNA 片段分析数据，具有高效、自动化的优点，结果更为精确、灵敏。同时，本研究中利用多重 PCR 毛细管电泳同时检测了 3 种荧光标记引物的样本，大大减少了人力，节省了操作时间，证实了该方法同样适用于高通量样本的检测分析，这将为今后 SSR 的快速、准确检测提供有力的支持。

参考文献(References)

Bailey SF, 1940. The distribution of injurious thrips in the United States. *Journal of Economic Entomology*, 33: 133 – 136.

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32: 314 – 331.

Brunner P, Frey J, 2004. Isolation and characterization of six polymorphic microsatellite loci in the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Insecta, Thysanoptera). *Molecular Ecology Notes*, 4: 599 – 601.

Chu D, Zhang YJ, Wan FH, 2007. Application of molecular marker techniques in invasion ecology. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 18(6): 1383 – 1387. [褚栋，张友军，万方浩，2007. 分子标记技术在入侵生态学研究中的应用. 应用生态学报，18(6): 1383 – 1387]

Chu D, Zhang YJ, Wan FH, 2008. *Bemisia tabaci*: biotype monitoring and genetic structure analysis. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45(3): 353 – 356. [褚栋，张友军，万方浩，2008. 烟粉虱生物型的监测及其遗传结构研究. 昆虫知识，45(3): 353 – 356]

De Barro PJ, Driver F, 1997. Use of RAPD PCR to distinguish the B biotype from other biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Australian Journal of Entomology*, 36: 149 – 152.

Duan Y, Wu RH, Luo LZ, Wu YQ, Jiang YL, Miao J, Gong ZJ, 2011. Characterization of SSRs from the ESTs in the wheat midge, *Sitodiplosis mosellana* (Gehin) (Diptera: Cecidomyiidae). *Acta Entomologica Sinica*, 54(10): 1147 – 1154. [段云，吴仁海，罗礼智，武予清，蒋月丽，苗进，巩中军，2011. 麦红吸浆虫唾腺 EST-SSRs 的信息分析及分子标记筛选. 昆虫学报，54(10): 1147 – 1154]

Ellis JR, Burke JM, 2007. EST-SSRs as a resource for population genetic analyses. *Heredity*, 99: 125 – 132.

Jiang XL, Bai S, Xiao S, Yang B, 2001. Quarantine service for the international flower festival in Kunming, China. *Plant Quarantine*, 15(2): 115 – 117. [蒋小龙，白松，肖枢，杨碧，2001. 为中国昆明国际花卉节把关服务. 植物检疫，15(2): 115 – 117]

Jones T, Scott-Dupree C, Harris R, Shipp L, Harris B, 2005. The efficacy of spinosad against the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, and its impact on associated biological control agents on greenhouse cucumbers in southern Ontario. *Pest Management Science*, 61: 179 – 185.

Kirk WDJ, 2002. The pest and vector from the West: *Frankliniella occidentalis*. In: Marullo R, Mound LA eds. Thrips and Tospoviruses. Proceedings of the Seventh International Symposium on Thysanoptera. Australian National Insect Collection, Canberra. 33 – 44.

Kirk WDJ, Terry LI, 2003. The spread of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Agricultural and Forest Entomology*, 5(4): 301 – 310.

Lalitha S, 2000. Primer Premier 5. *Biotech Software & Internet Report*, 1(6): 270 – 272.

Li B, Xia QY, Lu C, Zhou ZY, 2004. Analysis of microsatellites derived from bee ESTs. *Acta Genetica Sinica*, 31(1): 1089 – 1094. [李斌，夏庆友，鲁成，周泽扬，2004. 蜜蜂 EST 中的微卫星分析. 遗传学报，31(10): 1089 – 1094]

Liu JN, Gui FR, Li ZY, 2008. Applications of SSR molecular markers to studies on insect invasion. *Plant Protection*, 34(3): 7 – 11. [刘佳妮，桂富荣，李正跃，2008. SSR 分子标记技术在入侵昆虫学研究中的运用. 植物保护，34(3): 7 – 11]

Liu YD, Hou ML, 2010. Analysis of microsatellite information in EST resource of *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Acta Entomologica Sinica*, 53(3): 239 – 247. [刘玉娣，侯茂林，2010. 褐飞虱 EST 资源的微卫星信息分析. 昆虫学报，53(3): 239 – 247]

Ma CL, Wu HL, Hu HY, Wu X, Ma GC, Fu YG, Peng ZQ, 2011. Isolation and characterization of eight polymorphic microsatellite loci for the coconut pest, *Brontispa longissima* (Coleoptera: Hispidae). *Genetics and Molecular Research*, 10(1): 429 – 432.

Mi Z, Li AX, Ruan CL, Li GN, Du WH, Long YH, Zhu Y, 2011. Searching and analysis of EST-SSR markers from linkage group 12 of the silkworm, *Bombyx mori*. *Acta Entomologica Sinica*, 54(11): 1223 – 1230. [米智，李傲祥，阮成龙，李冠楠，杜文华，隆耀航，朱勇，2011. 家蚕第 12 连锁群 EST-SSR 标记的筛选和分析. 昆虫学报，54(11): 1223 – 1230]

Pashiley C, Ells JR, McCauley DE, Burke JM, 2006. EST databases as a source for molecular markers: lessons from *Helianthus*. *Journal of Heredity*, 97(4): 381 – 388.

Rotenberg D, Whitfield A, 2010. Analysis of expressed sequence tags for

Frankliniella occidentalis, the western flower thrips. *Insect Molecular Biology*, 19: 537 - 551.

Tang YJ, Luo HL, Nei K, 2007. Analysis of microsatellites from *Schistosoma mansoni* ESTs. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 29(8): 629 - 633. [唐远菊, 罗洪林, 聂奎, 2007. 曼氏血吸虫 EST 中的微卫星分析. 中国预防兽医学报, 29(8): 629 - 633]

Temnykh S, DeClerck G, Lukashova A, Lipovich L, Cartinhour S, McCouch S, 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome Research*, 11(8): 1441 - 1452.

Xu JJ, Wei LL, 2005. Invaded insect pest - *Frankliniella occidentalis* first reported in the city of Lincang. *Plant Quarantine*, 19(5): 294 - 295. [徐家菊, 韦丽莉, 2005. 临沧市新发现外来有害生物——西花蓟马. 植物检疫, 19(5): 294 - 295]

Yan DK, Tang YX, He ZY, Sun L, Wang MH, Xue XF, Fan JQ, 2010. Survey in Nanjing and the PCR diagnosis of *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 33(4): 59 - 63. [严丹侃, 汤云霞, 贺子义, 孙雷, 王鸣华, 薛晓峰, 范加勤, 2010. 南京地区西花蓟马发生调查及其分子检测. 南京农业大学学报, 33(4): 59 - 63]

Yang H, Cui YY, Zhang S, Sun XJ, 2010. The occurrence and damage of the exotic invasive pest: western flower thrip (*Frankliniella occidentalis*) in Xinjiang. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 47(11): 2252 - 2253. [杨华, 崔元玗, 张升, 孙晓军, 2010. 外来入侵害虫——西花蓟马在新疆的发生为害. 新疆农业科学, 47(11): 2252 - 2253]

Yeh FC, Yang RC, Boylet T, 1999. POPGENE (version 1.31): Software Microsoft Windows-based Freeware for Population Genetics Analysis. University of Alberta, Alberta, Canada.

Zhang LL, Wei CM, Lian ZM, Kong GY, 2008. Abundance of microsatellites in the entire genome and EST of *Tribolium castaneum*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45(1): 38 - 42. [张琳琳, 魏朝明, 廉振民, 孔光耀, 2008. 赤拟谷盗全基因组和 EST 中微卫星的丰度. 昆虫知识, 45(1): 38 - 42]

Zhang YJ, Wu QJ, Xu BY, Zhu GR, 2003. Dangerous alien invasive species, western flower thrips make damages in Beijing. *Plant Protection*, 29(4): 58 - 59. [张友军, 吴青君, 徐宝云, 朱国仁, 2003. 危险性外来入侵生物——西花蓟马在北京发生危害. 植物保护, 29(4): 58 - 59]

Zheng CY, Liu YH, Zhang NQ, Zhao XL, 2007. Invaded insect pest - *Frankliniella occidentalis* first reported in Shandong Province. *Journal of Qingdao Agricultural University* (*Natural Science*), 24(3): 172 - 174. [郑长英, 刘云虹, 张乃芹, 赵希丽, 2007. 山东省发现外来入侵有害生物——西花蓟马. 青岛农业大学学报(自然科学版), 24(3): 172 - 174]

(责任编辑: 赵利辉)